

Проф. А.Н.КОСИНЕЦ, проф. Г.П.АДАМЕНКО, С.В.ОДИНЦОВА

**Послеоперационная иммунокорригирующая
терапия в комплексном лечении
больных распространенным перитонитом**

Республиканский научно-практический центр «Инфекция в хирургии»
(Руководитель - проф. А.Н.Косинец)

В статье представлен собственный оригинальный материал по применению иммунокорригирующей терапии в комплексном послеоперационном лечении больных распространенным перитонитом (РП) посредством цитокинов смешанной культуры аутологичных нейтрофильных лейкоцитов и моноцитов крови. Этот метод иммунокоррекции позволяет добиться улучшения клинического течения послеоперационного периода РП и быстрее (на 2-3 дня) выздоровления больных. С использованием современных иммунологических методов показано, что эффективность такой иммунокоррекции реализуется на уровне регуляторных факторов Т-клеточного звена иммунитета и неспецифической иммунологической резистентности организма с участием периферической крови.

Лечение перитонита одна из сложных задач хирургии [2, 5, 9]. Включение в его комплексное лечение иммунокорригирующей терапии благоприятно влияет на течение и исход заболевания. Нашли применение иммунокорригирующие препараты естественного происхождения, синтетические иммуномодуляторы, препараты тимуса и костного мозга, методы экстракорпорального воздействия на иммунную систему [6, 8, 10].

В настоящее время для лечения больных с нарушениями в иммунной системе используются цитокины (интерферон, интерлейкины и др.) иммунокомпетентных клеток и их рекомбинантные формы [3]. Разработан и применяется лечебный принцип, основанный на локальном использовании цитокинов, продуцируемых активированными аутологичными лимфоцитами [4]. Также установлено, что в смешанной культуре нейтрофильных лейкоцитов и моноцитов крови человека продуцируется ряд веществ с активностью цитокинов и иммунокорригирующим действием [1].

Цель исследования: изучение иммунотропных свойств цитокинов смешанной культуры нейтрофильных лейкоцитов и моноцитов крови больных перитонитом в условиях аутологичного применения в комплексном лечении послеоперационного периода заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 28 больных распространенным перитонитом (РП) в возрасте 40-65 лет, в токсической стадии заболевания. Диагноз заболевания поставлен по данным комплексного клинико-лабораторного обследования. Пациенты были разделены на 2 группы: I группа – 16 больных РП, в послеоперационном лечении которых применялась иммунокорректирующая терапия аутологичными цитокинами; II группа - 12 больных РП, послеоперационное лечение которых проводилось без иммунокоррекции. Контрольную группу (III группа) составили 20 здоровых людей в того же возраста.

Метод иммунокорректирующей терапии аутологичными цитокинами (ИТАЦ) смешанной культуры нейтрофильных лейкоцитов и моноцитов крови больных РП проводилась в два этапа.

На первом этапе получали цитокины в следующей последовательности. Из периферической крови (20-30 мл) больного выделяли нейтрофильные лейкоциты и моноциты, которые культивировали в бессывороточной среде в смешанной культуре клеток (из расчета 5 нейтрофильных лейкоцитов на 1 моноцит) в стерильных пластиковых чашках Петри в течение 10-12 часов. За это время в клеточной культуре в результате взаимодействия клеток продуцировались и накапливались цитокины. При последующем центрифугировании клеточной культуры получали надосадочную жидкость, содержащую комплекс цитокинов. Супернатант стерилизовали через миплипоровые фильтры (диаметр пор - 0,25 мкм) и стандартизировали по белку и биологической активности.

На втором этапе ИТАЦ полученные препараты аутологичных цитокинов вводили внутривенно этому же больному по 0,1 мл (100 мкг/мл) 3 раза в день в течение 5-6 суток послеоперационного периода заболевания. Более подробно ИТАЦ описан нами ранее [7]. Эффективность ИТАЦ в лечении больных РП оценивалась на основании комплексного обследования. Клинико-лабораторная эффективность анализировалась общепризнанным способом. Иммунологическое обследование включало следующие исследования. Количество в крови Т-лимфоцитов и их регуляторных субпопуляций (Т-лимфоциты хелперы и супрессоры) определяли реакцией непрямой иммунофлюоресценции с применением моноклональных антител [7]. Функциональную активность моноцитов (продукция ИЛ-1 и уровень экспрессии HLA-DR антигенов) и нейтрофилов (НСТ-тесты спонтанный и стимулированный) оценивали используя ранее описанные методы [7].

Полученный материал обрабатывали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Иммунная защита организма при РП в основном определяется Т-клеточным звеном

иммунитета и неспецифической иммунологической резистентностью [2, 5]. Исходя из этого мы исследовали некоторые показатели этих компонентов иммунологической реактивности.

Как видно из таблицы 1 в крови больных РП в токсической стадии заболевания наблюдается достоверное ($p<0,05$) снижение количества Т-лимфоцитов и их регуляторной субпопуляции с хелперной активностью по сравнению с данными, полученными у доноров. В то же время со стороны Т-лимфоцитов супрессоров, наоборот, отмечалась тенденция к увеличению числа этих клеток в крови больных РП.

При сравнительном анализе установлено, что у этих больных снижена как способность моноцитов продуцировать ИЛ-1, так и уровень экспрессии HLA-DR антигенов на этих клетках по сравнению с состоянием этих показателей у моноцитов крови здоровых людей (табл. 1). Из представленной таблицы видно, что у обследованных больных резко повышена (в 3 раза) метаболическая активность нейтрофильных лейкоцитов в спонтанном НСТ-тесте, в то время как в стимулированном НСТ-тесте увеличение функции клеток было менее выраженным (в 1,5 раза). Такой дисбаланс повышения метаболической активности нейтрофилов больных РП сопровождался снижением функционального резерва этих клеток (табл. 1).

Следовательно, токсическая стадия РП характеризуется иммунологическими изменениями на уровне Т-клеточного звена иммунитета и клеток (моноциты и нейтрофилы) неспецифической иммунологической резистентности организма.

В следующей серии исследований изучалось влияние включения ИТАЦ в комплексное послеоперационное лечение больных РП на клиническое и иммунологическое течение заболевания.

Как видно из таблицы 2 иммунокоррекция оказалась иммунологически высокоэффективной (контроль – показатели до лечения). Применение ИТАЦ вызывает достоверное ($p<0,05$) повышение содержания в крови Т-лимфоцитов, Т-лимфоцитов хелперов и функциональной активности (продукция ИЛ-1 и уровень экспрессии HLA-DR антигенов) моноцитов. Кроме того, у этих больных на 3-4 сутки после начала ИТАЦ наблюдается выраженная тенденция к нормализации количества лейкоцитов и повышение содержания лимфоцитов (до 20%) в периферической крови. Менее чувствительными к ИТАЦ были нейтрофилы. По результатам проведенных спонтанного и стимулированного НСТ-тестов наблюдалась повышенная метаболическая активность этих клеток и сохранялся дефицит их функционального резерва (табл. 2).

Представленные в таблице 2 результаты обследования показывают, что на 7-е сутки после операции у больных РП не получавших ИТАЦ обнаруживалась только тенденция к восстановлению иммунологических показателей по сравнению с данными, полученными у этих больных на 1-е сутки после операции. У этих же больных показатели периферической крови (количество лейкоцитов и лимфоцитов) оставались измененными в течение 7- 10 дней после

операции, что является отличительным признаком от пациентов, получавших ИТАЦ.

Иммунологическая эффективность ИТАЦ сопровождалась положительной клинической динамикой течения заболевания, что проявлялось быстрее́м улучшением общего состояния больных, нормализацией температуры тела на 3-5-е сутки после операции, значительным уменьшением признаков эндогенной интоксикации, неосложненным заживлением послеоперационных ран первичным натяжением. Больные выздоравливали на 17-19-е сутки после операции, что на 2-3 суток раньше, по сравнению с пациентами не получавшими ИТАЦ.

Таким образом, включение ИТАЦ в комплексное лечение больных РП является эффективным лечебным фактором и, по-видимому, имеет перспективы применения по следующим соображениям.

Во-первых, данный способ основан на применении цитокинов иммунокомпетентных клеток, которые в настоящее время считаются наиболее эффективными средствами иммунокорригирующей терапии [3, 4]. Кроме того, при ИТАЦ применяются цитокины аутологичных иммунокомпетентных клеток, что является наиболее физиологичным способом, и имеющим минимальные противопоказания для применения и побочные действия.

Во-вторых, немаловажным является то, что при внутрикожном введении препарат, в основном, поступает в лимфоидную систему и через нее в лимфатические узлы, в которых генерируются, развиваются и созревают иммунокомпетентные клетки, осуществляющие регуляторные и эффекторные реакции защиты организма от микробной экспансии при РН.

В-третьих, этот способ иммунокоррекции прост и экономичен в исполнении, поскольку не требует дорогостоящего оборудования и реактивов, а для получения препарата требуется лишь 20-30 мл периферической крови самого больного.

Недостаток такого метода иммунокорригирующей терапии заключается в индивидуальном его применении, что ограничивает серийное производство и применение препарата.

ВЫВОДЫ

1. Включение ИТАЦ в комплексное послеоперационное лечение больных РП оказывает благоприятное влияние на течение и исход заболевания.

2. Клинико-иммунологическая эффективность ИТАЦ связана с дифференцированным действием на Т-клеточное звено иммунитета, иммунорегуляторные свойства моноцитов, и как следствие, быстрее́е (на 2-3 дня) выздоровление больных.

3. Предлагаемый способ иммунокорригирующей терапии имеет ряд биотехнологических и иммунобиологических преимуществ, поскольку прост, экономичен в применении, а использование в аутологичной системе обуславливает его физиологичность, с наименьшими противопоказаниями и побочными действиями.

1. Адаменко Г.Р. Рецепторные и медиаторные механизмы взаимодействия нейтрофилов и моноцитов крови человека в норме и при заболеваниях с иммунопатологическим компонентом Г Дисс.... д-ра мед.наук. – М, 1993. – 234 с.
2. Гостищев В.К., Сажин В.П., Авдошенко А.П. Перитонит. – М: Медицина, 1992. – 223 с.
3. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., Воробьев А.А. Эндогенные иммуномодуляторы. – С.-Пб., 1991.
4. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. //Аллергология и клин. иммунология, 1993. – № 1. – С.87-94.
5. Косинец А.Н. Профилактика и лечение гнойно-воспалительных осложнений при экстренных операциях на органах брюшной полости /Автореф. дис.... д-ра, мед. наук. - М, 1993. - 32 с.
6. Одинцова С.В. Иммунокорректирующая терапия в комплексном лечении больных перитонитом /Авторе. дис.... канд. мед. наук. - М, 1994. - 21 с.
7. Сачек М.Г., Косинец А.Н, Адаменко Г.П. Иммунологические аспекты хирургической инфекции. - Витебск, 1994.
8. Соловьев Г.М., Петрова ИВ., Ковалев С.В. Иммунокоррекция, профилактика и лечение гнойных хирургических заболеваний. – М: Медицина, 1987. – 160 с.
9. Стручков В.И., Гостищев В.К, Стручков Ю.В. Хирургическая инфекция (руководство). – М, 1991. – С. 560.
10. Шах Б.Н. Иммунокорректирующая терапия в комплексном лечении больных с острым разлитым перитонитом/Автореф. дис.... канд. мед. наук, 1990. - 21 с.

СТАТЬЯ ПЕЧАТАЕТСЯ В ПОРЯДКЕ ДИСКУССИИ

Канд. мед. наук Н.И. СЕРГЕЕНКО

ЗАВИСИМОСТЬ НЕЙРОВЕГЕТАТИВНОЙ ЗАЩИТЫ В ПЕРИОД ОПЕРАЦИИ ОТ ИСХОДНОГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Отделение анестезиологии и реанимации Витебской областной нефрологической больницы (Гл. врач Некрасов В.Б.)

Обследовано 288 урологических больных, оперированных в плановом порядке. Для достижения достаточной нейровегетативной защиты в период операции у больных с исходно высокой вегетативной реактивностью были использованы самые высокие дозы препаратов для наркоза. Тогда как низкая исходная вегетативная реактивность для достаточной нейровегетативной защиты способствовала использованию низких доз.

Антидепрессант бефол, применяемый в предоперационном периоде, повышал вегетативную реактивность, тогда как транквилизатор гидазепам вегетативную реактивность снижал.

Одним из широко используемых методов общей анестезии, обеспечивающим, в основном, достаточную нейровегетативную защиту, является использование препаратов для нейролептанальгезии (НЛА) в сочетании с закисью азота и миорелаксантами [9]. Тем не менее, в литературе встречаются данные о неустойчивой вегетативной стабили-

**Таблицы к статье проф. А.И. Косинца : ПОСЛЕОПЕРАЦИОННАЯ
ИММУНОКОРЕГИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ
БОЛЬНЫХ РАСПРОСТРАНЕННЫМ ПЕРИТОНИТОМ**

Таблица 1

Состояние Т-клеточного звена иммунитета и неспецифической резистентности у
больных РП токсической стадии

Показатели	Обследуемые	
	Больные РП	Доноры
Т-ЛИМ ОЦИТЫ, %	31,72 ± 1,29	55,35 ± 1,51
Т-лимфоциты хелперы, %	26,75 ± 1,78	43,9 ± 0,59
Т-лимфоциты супрессоры, %	18,8 ± 2,31	17,65 ± 0,38
ИЛ-1 продуцирующая активность моноцитов (индекс стимуляции)	1,09 ± 0,027*	1,77 ± 0,017
HLA-DR позитивные моноциты, %	8,9 ± 1,09	20,35 ± 0,36
НСТ-тест спонтанный, %	44,41 ± 2,41	11,25 ± 1,01
стимулированный, %	53,66 ± 2,32	37,0 ± 2,22
Функциональный резерв нейтрофилов, %	9,25 ± 1,04	25,8 ± 1,91

Примечание: - статистически достоверно ($p < 0,05$) с показателями в контроле.

Таблица 2

Влияние ИТАЦ на иммунную систему больных РП в токсической стадии

Показатели	Обследуемые		
	Больные РП, не получавшие ИТАЦ	Больные РП, получавшие ИТАЦ	Доноры
Т-ЛИМФОЦИТЫ, %	37,7 ± 3,1* 39,3 ± 1,23*	34,5 ± 2,9* 50,7 ± 6,3**	55,35 ± 1,51
Т-лимфоциты хелперы, %	26,1 ± 3,0* 35,0 ± 1,51*	25,3 ± 2,1* 40,4 ± 2,0**	43,9 ± 0,59
Т-лимфоциты супрессоры, %	18,0 ± 2,46 16,9 ± 1,88	16,8 ± 0,8 19,8 ± 1,2	17,65 ± 0,38
ИЛ-1 активность моноцитов	1,32 ± 0,05* 1,49 ± 0,05*	1,24 ± 0,02* 2,93 ± 0,05**	1,77 ± 0,017
HLA-DR позитивные моноциты, %	14,2 ± 0,5* 15,5 ± 1,04*	13,1 ± 0,7 21,7 ± 1,8	20,35 ± 0,36
НСТ-тест спонтанный, %	44,4 ± 2,5* 29,2 ± 1,05*	47,1 ± 2,8* 31,4 ± 1,17	37,0 ± 2,22
стимулированный, %	53,7 ± 2,4* 44,5 ± 2,24*	56,1 ± 2,06* 41,3 ± 1,7*	
Функциональный резерв нейтрофилов, %	9,25 ± 1,14* 15,2 ± 1,58*	5,0 ± 1,7* 10,01 ± 0,8*	

Примечание: в числителе – показатели до лечения; в знаменателе - после лечения.

* - статистически достоверно ($p < 0,05$) с показателями у доноров;

** - статистически достоверно ($p < 0,05$) с показателями у больных, не получавших ИТАЦ.